【使用上または取り扱い上の注意事項】

1） 使用上の注意事項

① 本キットをご使用になる際には、取扱説明書をよく読み、記載された試験方法に従って使用してください。
② 使用期限の過ぎたキットは使用しないでください。使用期限はキット外装ラベルおよびテストストリップアルミ包装に記載されています。*
③ 本キットは食品中からリステリア属菌を検出するための試薬であり、臨床的診断を下す目的で使用することはできません。
④ 試料中の成分の影響により、偽陽性が示される可能性があります。本キットで陽性を示した試料については、公定検査法等他の方法により、必ず確認を行ってください。
⑤ 試料溶液の調製に使用する器具ならびに試薬類（培地を含む）の使用方法等については、それぞれの製造元もしくは販売元にご確認ください。
⑥ 本取扱説明書は検査担当者のガイドラインとして作成されています。各操作手順や各々の食品におけるアプリケーションの妥当性については自ら検証してください。
⑦ 商品の仕様については、予告なく変更になる場合があります。

2） 危険防止上の注意事項

① 本キットの検出対象であるリステリア属菌は微量でも感染する可能性があります。また、リステリア属菌以外の微生物による感染の可能性もあるため、試験を実施する際には保護手袋、保護メガネ等を着用するなど十分留意してください。
② 試験を実施する際には、適切な設備・施設で行い、責任ある管理者の指導のもとで標準的な微生物検査手順にて実施してください。
③ 誤って試料溶液等が目や口に入った場合には、直ちに水道水で洗い流す等の応急処置を行い、医師の手当てを受けてください。
④ 本キットによる試験実施後、身体に異常を感じた場合には、直ちに医師の手当てを受けてください。
⑤ 妊娠している、及び妊娠している可能性がある女性の方は、検査室等でリステリア属菌に接触しないよう注意してください。流産や早産の原因となる可能性があります。

3） 廃棄上の注意事項

① 試験に使用したテストストリップや増菌培地、試料および試料溶液の残り等は、感染の可能性があると考え、必ずオートクレーブ処理（121℃、20 分）、もしくは 0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸すなどの適切な滅菌処理を施してください。*
② 本キットならびに試料および試料溶液の残りなどを廃棄する場合には、当該地域の廃棄物に関する規定に従い、衛生面、環境面に十分配慮し廃棄してください。

【貯法・使用期限】

1） 貯法 ： 冷蔵（2～8℃）、遮光にて保存してください。また、凍結は避けてください。
2） 使用期限 ： 製造日より 12 ヶ月。

【包装単位】

NH イムノクロマト リステリア　　20 テスト入

【参考文献】

1） 光山正雄:リステリア属菌, 細菌学, 朝倉書店, 454-460 (2002).
2） Paul S. Mead, et al. : Emerging Infectious Diseases, Vol.5, No.5, 607-624 (1999).
3） 厚生労働省監修:食品衛生検査指針微生物編, (社)日本食品衛生協会, 249-265 (2004).
4） 五十君靜信:食品衛生研究, 53, 19-23 (2003).
5） ISO 11290-1 (1996).
6） 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長通知:平成 5 年 8 月 2 日衛乳第 169 号(1993)
7） IDF Standard 143 (1990), IDF Standard 143A (1995)

〔販売元および問い合わせ先〕

キット外装ラベルに記載

〔製造元〕

〒300-2646　茨城県つくば市緑ヶ原 3-3
日本ハム株式会社　中央研究所
電話:029(847)7825／FAX:029(847)7824
URL:http://www.rdc.nipponham.co.jp

2009 年 10 月改訂（第 2 版）*
2006 年 5 月作成 （第 1 版）

[食品検査用試薬]

NHイムノクロマト リステリア ≪取扱説明書≫

※本キットをご使用になる前に必ずお読みください。

【開発の経緯】

リステリア属菌は、土壌や河川、野菜など自然界に広く存在し、他の細菌に比べて熱・塩・酸に強く、冷蔵庫中でも増殖が可能です[1)]。そのため、食品の流通段階において、本菌が感染可能菌数まで増殖した場合、食中毒の危険性があります。

海外では、牛乳、チーズ、野菜、食肉などの食品を原因とした集団発生事例があります。特に米国では、毎年約 2500 人が感染し、そのうち約 500 人が死亡していると推定されています[2)]。日本国内では、本菌による食中毒事例は報告されていませんが、食品の汚染率は日本と欧米にほとんど差が認められないことから[3), 4)]、今後本菌による食中毒事例が発生する可能性は否定できないと言われています。

本品は、イムノクロマト法を用いた食品中のリステリア属菌検出キットで、簡単な操作で短時間に結果を得ることができます。

【本品の特徴】

1） 1 ステップの簡単な操作のため、習熟を必要としません。
2） 迅速に結果が得られます。
3） 特別な検出装置を必要としません。

【キットの内容】

1） 構成品*

A: テストストリップ…… 2 テスト×10
B: 取扱説明書…… 1 部
C: ビニールパウチ袋 …… 1 枚

2） 成分*

① 試薬含有部
金コロイド標識抗リステリア抗体（ウサギ）
② 展開部
抗リステリア抗体（ウサギ）
抗ウサギ免疫グロブリン抗体（ヤギ）

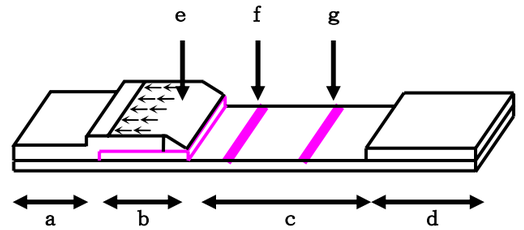
【目的】

1） 食品中に含まれるリステリア属菌の検出。

注1：本キットはリステリア属菌検出用の試薬のため、リステリア・モノサイトゲネスと他のリステリア属菌の識別はできません。

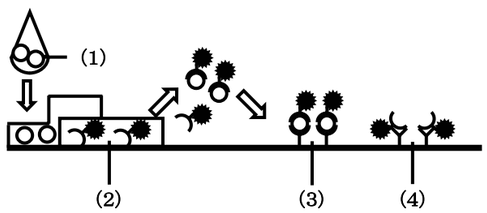
【テストストリップ各部名称および検出原理*】

1） テストストリップ各部名称*



a. 試料滴下部（手で触れないよう注意してください。）
b. 試薬含有部
c. 展開部
（手で触れたり、キズをつけないよう注意してください。）
d. 吸収パッド
e. 測定項目記載位置
f. テストライン出現位置（試料滴下部より約 30mm）
g. コントロールライン出現位置（試料滴下部より約 38mm）

2） 検出原理*



テストストリップの試料滴下部に試料溶液を滴下すると、試薬含有部に含まれる金コロイド標識抗リステリア抗体(2)が溶解し、試料溶液中のリステリア属菌(1)と複合体を形成します。これらの複合体は展開部を毛細管現象により移動し、テストライン出現位置に固定化された抗リステリア抗体(3)に捕捉され、金コロイドによる赤紫色のラインが出現します。本キットはこの赤紫色のラインを目視により確認し、試料溶液中のリステリア属菌の有無を判定します。

一方、試料溶液中のリステリア属菌の有無に関わらず、余剰の金コロイド標識抗体が展開部をさらに移動し、コントロールライン出現位置に固定化された抗ウサギ免疫グロブリン抗体(4)に捕捉され、赤紫色のラインを形成します。このラインの有無により、試料溶液が展開部を正常に移動したことを確認します。

【試料溶液の調製】

※　試料溶液の調製方法は、ISO 11290-1[5]を元に記載しています。

1）　必要な機器・器材

ストマッカー袋（フィルター付を推奨）、ストマッカー、インキュベーター（30℃、35～37℃）、オートクレーブ、増菌用培地、恒温水槽（80℃以上の温度設定が可能なもの）、ガラス製試験管、他

2）　試料の調製

①　被検食品から 200g（または 200mL）以上を採取してください。

②　固体の場合には、できるだけ多くの部位から少しずつ採取した 25g、液体の場合にはよく混合した 25mL を試料としてください。拭き取り検査では、拭き取り材料のガーゼ等をそのまま試料とするか、少量の希釈水等で振り出した液を試料としてください。

3）　増菌培養

①　試料に対し 9 倍量の一次増菌培地（half Fraser 培地）を加え、試料によって適切な時間ストマッキングし、30℃で 24±2 時間培養してください。

②　一次増菌液 0.1mL を二次増菌培地（Fraser 培地）10mL に接種し、35～37℃で 48±2 時間培養してください。

注1　公定検査法[6), 7)]に従い増菌培養を行う場合には、EB培地を用いて 30℃、48 時間培養してください。乳、乳製品以外の検体の場合には、UVM培地で培養することも可能です。

4）　滅菌操作

①　培養終了後、ストマッカー袋をインキュベーターより取り出し、培養液の飛散に注意しながら、緩やかに攪拌してください。

②　滅菌済みピペットを用いて、培養液 5mL をガラス試験管に分注し、80℃、20 分加温したものを試料溶液としてください。

注1：培養液の残りは、本キット試験実施後の確認試験に使用する可能性があるため、試験終了後まで滅菌せず安全に注意して保存してください。

【試験操作】

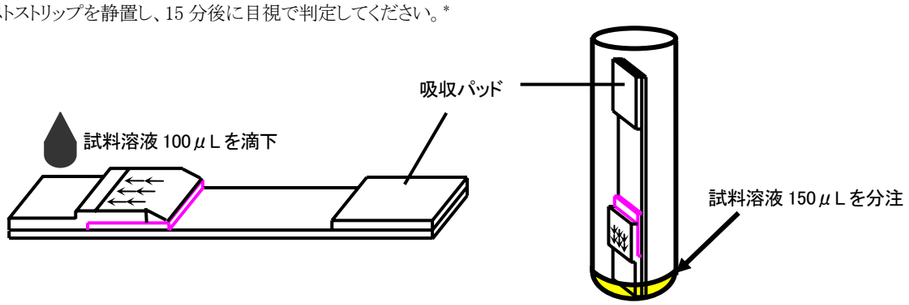
1）　NH イムノクロマトリステリア試験操作

①　テストストリップをアルミパウチ袋に入れたまま室温に戻し、使用直前にアルミ包装から取り出してください。*

②　取り出したテストストリップの吸収パッドに油性ペン等を用いて、試料名もしくは検体番号等を記入してください。*

③　テストストリップを水平な台の上に静置し、試料滴下部に試料溶液 100μL滴下してください（下記左図）。もしくは、試料溶液 150μLを試験管に分注し、テストストリップの試料滴下部が試料溶液に浸かるようにテストストリップを試験管に添加してください（下記右図）。*

④　テストストリップを静置し、15 分後に目視で判定してください。*



注 1：テストストリップは吸湿の影響により、正しい結果が得られないことがあるため、室温に戻してからアルミ包装から取り出してください。また、使用しないテストストリップは乾燥剤とともにビニールパウチ袋に入れ冷蔵保存してください。*

注 2：　テストストリップの試料滴下部および展開部には、直接手などで触れたり、キズをつけないよう注意してください。テストストリップを持つ場合には、吸収パッドを持つようにしてください。*

注 3：　試料溶液を滴下もしくは分注するために使用するピペットもしくはチップは必ず滅菌済みのものを使用し、試料溶液ごとに交換してください。

注 4：　試料溶液 100μLを滴下する際には、テストストリップから溢れないよう注意し、必要に応じ、2 回に分けて滴下するなどしてください。*

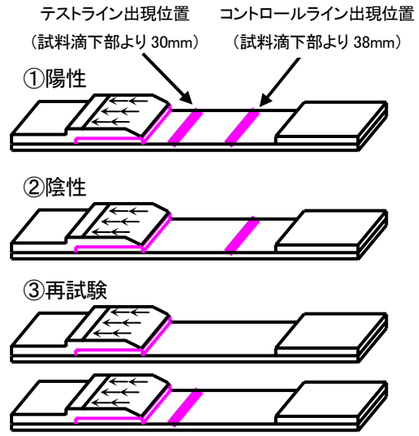
注 5：　作業者の感染防止のため、試料溶液を滴下して試験を行う際には、テストストリップの下にラップなどを敷いて試験を行うことをお勧めします。*

3）　結果の判定

①　試験開始 15 分後にテストライン出現位置およびコントロールライン出現位置に赤紫色のラインが観察される場合には、陽性と判定してください。また、試験開始 15 分後にテストライン出現位置に赤紫色のラインが認められない場合、もしくはラインが薄い場合には、試験開始 60 分後に再度確認してください。

②　テストライン出現位置に赤紫色のラインが認められず、コントロールライン出現位置にのみ赤紫色のラインが観察される場合には、陰性と判定してください。

③　コントロールライン出現位置に赤紫色のラインが認められない場合には、テストライン出現位置における赤紫色のラインの有無に関わらず、再試験としてください。試料溶液の展開に異常があった可能性があります。



注1：　本キットで陽性と判定された試料については、公定検査法などその他の方法にて必ず確認試験を実施してください。なお、本キットの試験に用いた増菌培養済み試料を公定検査法などの確認試験に使用することが可能です。

【性能】

1）　感度試験

L.monocytogenes ATCC7644 を用いて、本取扱説明書に記載された「試料溶液の調製」および「試験操作」に従い試験を行うとき、1×10^5CFU/mL濃度以上のとき、陽性を示します。

2）　再現性試験

リステリア属菌陽性の試料溶液、および陰性の試料溶液を各 3 回同時に試験するとき、陽性の試料溶液はすべて陽性、陰性の試料溶液はすべて陰性を示します。

3）　最小検出感度

*L.monocytogenes*標準株 4 株、*L.innocua*標準株 1 株、*L.ivanovi*標準株 1 株、*L.seeliger*標準株 1 株、*L.welshmer*標準株 1 株、*L.grayi*標準株 1 株による試験の結果、1×10^5～1×10^7CFU/mLが最小検出感度であることが確認されています。

注 1：　本キットの最小検出感度は、リステリア属菌の血清型、および試料中の成分の影響により変動する場合があります。

4）　交差反応性

①　以下の菌株との交差反応性は認められませんでした。

	管理番号	15 分判定
E.coli	ATCC 8739	－
P.aeruginosa	ATCC 9027	－
S.marcescens	ATCC 14756	－
S.enteritidis	IFO 3313	－
V.parahaemolyticus	ATCC 17802	－
V.vulnificus	ATCC 27562	－
K.pneumoniae	ATCC 4352	－
S.aureus	ATCC 6538	－
B.subutilis	ATCC 6633	－
B.cereus	ATCC 11778	－
M.luteus	ATCC 9341	－
E.faecalis	ATCC 10100	－
S.epidermidis	ATCC 12228	－